

Research, Society and Development, v. 9, n. 3, e60932377, 2020
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i3.2377>

Efeitos metabólicos da infusão das folhas de *Bauhinia forficata* em *Drosophila melanogaster* alimentadas com uma dieta rica em sacarose

Metabolic effects of *Bauhinia forficata* leaves infusion in *Drosophila melanogaster* fed with high sucrose diet

Efectos metabólicos de la infusión de hojas de *Bauhinia forficata* en *Drosophila melanogaster* alimentadas con una dieta alta en sacarosa

Recebido: 09/12/2019 | Revisado: 11/12/2019 | Aceito: 17/12/2019 | Publicado: 22/12/2019

Ianeli Oliveira do Prado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2712-6928>

Universidade Federal do Pampa, Brasil

E-mail: ianeliop@gmail.com

Aline da Silva Goulart

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3222-5816>

Universidade Federal do Pampa, Brasil

E-mail: alinefsgoulart@gmail.com

Débora Lopes Viçosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5649-3826>

Universidade Federal do Pampa, Brasil

E-mail: fisiodlv@gmail.com

Vanderlei Folmer

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6940-9080>

Universidade Federal do Pampa, Brasil

E-mail: vandfolmer@gmail.com

Andréia Caroline Fernandes Salgueiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6909-0839>

Universidade Federal do Pampa, Brasil

E-mail: acfsalgueiro@gmail.com

Resumo

O aumento do consumo de carboidratos na dieta pode causar uma série de desequilíbrios bioquímicos. A *Bauhinia forficata* (BF), popularmente conhecida como “pata-de-vaca”, é amplamente utilizada na medicina popular devido a sua ação antihiperlipidêmica. O objetivo

deste estudo foi avaliar os efeitos metabólicos da infusão das folhas de BF em moscas *D. melanogaster* alimentadas com uma dieta rica em sacarose. Para isso, diferentes concentrações de sacarose foram adicionadas ao meio de cultura padrão e o chá de BF foi administrado através de papel filtro. A variação de peso foi determinada comparando o peso das moscas nas diferentes concentrações de sacarose com a situação controle. Após três dias de tratamento, as moscas foram eutanasiadas para as análises bioquímicas. Os resultados mostraram que moscas fêmeas alimentadas com 40% de sacarose e moscas machos alimentadas com 30%, apresentaram níveis de glicose significativamente mais elevados em comparação com o grupo da mesma concentração tratado com o chá de BF. Os níveis de triglicerídeos foram significativamente aumentados nas fêmeas tratadas com 30% de sacarose quando comparadas ao controle. Houve um aumento não significativo no peso das fêmeas à medida que aumentou a concentração de sacarose. A atividade da enzima superóxido dismutase mostrou-se maior nas fêmeas, embora não significativa. O chá de BF não teve efeitos significativos sobre o peso corporal dos insetos. Em conclusão, os dados sugerem que uma dieta rica em carboidratos pode alterar os níveis de triglicerídeos e glicose em *D. melanogaster* e que o chá de BF pode ser útil na redução dos níveis de glicose.

Palavras-chave: Bauhinia forficata; Desordem metabólica; Estresse oxidativo; Mosca da fruta.

Abstract

Increased dietary carbohydrate consumption can cause several biochemical imbalances. *Bauhinia forficata* (BF), known in folk medicine as “cow paw”, is widely used because of its antihyperglycemic action. The aim of this study was to evaluate the metabolic effects of BF leaves infusion in *D. melanogaster* fed with a high sucrose diet. For this, different sucrose concentrations were added to the standard culture medium and the BF tea was administered through filter paper. Weight variation was determined by comparing the weight of the flies at different sucrose concentrations with the control flies. After three days of treatment, flies were euthanized for biochemical analysis. Results showed that female flies fed 40% sucrose and male flies fed 30% showed significantly higher glucose levels compared to the same concentration group treated with BF tea. Triglyceride levels were significantly increased in females treated with 30% sucrose as compared to control. There was no significant increase in female weight as sucrose concentration increased. Superoxide dismutase activity was higher in females, although not significant. BF tea had no significant effects on insect body weight.

In conclusion, the data suggest that a high carbohydrate diet may alter triglyceride and glucose levels in *D. melanogaster* and that BF tea may be helpful in lowering glucose.

Keywords: Bauhinia forficata; Metabolic disease; Oxidative stress; Fruit fly.

Resumen

El aumento del consumo de carbohidratos en la dieta puede causar una serie de desequilibrios bioquímicos. La *Bauhinia forficata* (BF), conocida popularmente como “pata de vaca” o “pezuña de vaca”, se usa ampliamente en la medicina popular debido a su acción antihiper glucémica. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos metabólicos de la infusión de hojas de BF en moscas *D. melanogaster* alimentadas con una dieta rica en sacarosa. Para esto, se agregaron diferentes concentraciones de sacarosa al medio de cultivo y se administró té de BF a través de papel de filtro. La variación de peso se determinó comparando el peso de las moscas a diferentes concentraciones de sacarosa con la situación de control. Después de tres días de tratamiento, las moscas fueron sacrificadas para análisis bioquímicos. Los resultados mostraron que las moscas hembras alimentadas con 40% de sacarosa y las moscas machos alimentadas con 30% tenían niveles de glucosa significativamente más altos en comparación con el mismo grupo de concentración tratado con BF. Los niveles de triglicéridos aumentaron significativamente en las hembras tratadas con 30% de sacarosa en comparación con el control. No hubo un aumento significativo en el peso de hembras a medida que aumentó la concentración de sacarosa. La actividad de la enzima superóxido dismutasa fue mayor en las hembras, aunque no significativa. El té de BF no tuvo efectos significativos sobre el peso corporal de los insectos. En conclusión, los datos sugieren que una dieta alta en carbohidratos puede alterar los niveles de triglicéridos y glucosa en *D. melanogaster* y que el té de BF puede ser útil para reducir la glucosa.

Palabras clave: Bauhinia forficata; Alteraciones metabólicas; Estrés oxidativo; Mosca de la fruta.

1. Introdução

O *Diabetes mellitus* (DM) é uma desordem metabólica caracterizada pela falta de produção de insulina ou ainda pela incapacidade de utilização da insulina produzida. Essa síndrome tem sido cada vez mais prevalente, atingindo atualmente cerca de 643 milhões de pessoas, podendo esse número chegar a 700 milhões em 2045 (IDF, 2019). Ainda, dados recentes demonstram que no Brasil há mais de 13 milhões de pessoas vivendo com DM, o que representa 6,9% da população (SDB, 2018).

Dos tipos de DM existentes, o mais comum é o tipo 2, que ocorre geralmente em pessoas obesas, sedentárias, com mais de 40 anos. Entretanto, a frequência de DM tipo 2 vem aumentando em jovens, em virtude dos maus hábitos alimentares. Neste tipo de DM há produção de insulina, porém, sua ação é dificultada, o que é conhecido como resistência à insulina (SDB, 2018). Diante disso, observa-se que indivíduos com hábitos alimentares saudáveis apresentam menores riscos de agravos associados ao DM, quando comparados a indivíduos com práticas alimentares não saudáveis (Brito et. al., 2020). Em longo prazo, a manutenção de níveis glicêmicos elevados desencadeia diversos desequilíbrios bioquímicos, resultando em danos a diferentes órgãos e tecidos (Folmer et al., 2002; Salgueiro et al., 2016).

Os desequilíbrios bioquímicos decorrentes da hiperglicemia podem ser consequência do estresse oxidativo, relacionado aos processos de auto-oxidação da glicose, glicação não enzimática de proteínas e ativação da via dos poliois (Salgueiro et al., 2016). No estresse oxidativo, a produção de espécies reativas excede a capacidade antioxidante do organismo, causando avarias aos componentes biológicos. Com o intuito de evitar esse quadro, o organismo possui mecanismos de defesa antioxidante. Dentre eles, os antioxidantes enzimáticos, que neutralizam a ação dos radicais livres. A enzima superóxido dismutase (SOD) é um desses mecanismos enzimáticos, o qual age transformando dois ânions radicais superóxidos em um peróxido de hidrogênio (De Moraes et. al., 2009).

Semelhante ao que acontece em humanos, modelos experimentais quando alimentados com dietas hipercalóricas/hiperglicídicas desenvolvem quadros análogos a resistência à insulina (Folmer et. al., 2002). Entretanto, a utilização de animais cordados na pesquisa tem sido alvo de muitas discussões, e o interesse por modelos alternativos vem crescendo a cada ano. Nesse sentido, para a indução de um estado semelhante ao DM tipo 2, pode-se utilizar como modelo experimental a mosca *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca da fruta. Esse uso se justifica pela semelhança existente entre o sistema neuroendócrino da *D. melanogaster* e o sistema neuroendócrino pertencente aos mamíferos (Morris et al., 2012).

De fato, este modelo tem se mostrado apropriado para a investigação de muitos aspectos relacionados à alimentação, pois as moscas possuem mecanismos de sinalização de insulina equivalentes aos de mamíferos, além de semelhanças importantes no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios (Morris et al., 2012; Lushchak et al., 2011). As células alfa e beta, presentes nesse inseto, assemelham-se às existentes no pâncreas de mamíferos e apresentam-se como dois conjuntos de células na porção anterior da cabeça da mosca (Morris et al., 2012). As *D. melanogaster* possuem ainda sete peptídeos análogos à insulina,

conhecidos como DILPS, sendo o DILP2 o mais próximo da insulina em humanos (Rulifson et al., 2002). Além disso, vários genes envolvidos na via de sinalização da insulina são bastante parecidos com os pertencentes aos mamíferos (Rulifson et al., 2002).

As moscas manifestam também muitas das características observadas na síndrome metabólica, como dislipidemia e resistência à insulina (Casas-Tinto et al., 2007). Em larvas, por exemplo, a diminuição de células produtoras de insulina resulta em um estado muito próximo ao da hiperglicemia observada em mamíferos. Esse estado permanece durante a vida adulta e é caracterizado por níveis elevados de glicose na hemolinfa das moscas (Broughton et al., 2008). Nesse sentido, Ecker et al. (2017) apontam a utilidade da *D. melanogaster* como uma ferramenta para o estudo de distúrbios metabólicos e potenciais agentes terapêuticos.

Entre os agentes terapêuticos possíveis, plantas consideradas medicinais são extensivamente utilizadas para o tratamento do DM. Dentre as espécies vegetais possíveis, encontram-se as plantas do gênero *Bauhinia*, especialmente a *Bauhinia forficata* (BF), apontada por possuir ação hipoglicemiante (Silva e tal., 2002; Trojan-Rodrigues et al., 2012). Entretanto, poucos levam em consideração o uso dessa planta na forma de infusão, como é utilizada popularmente (Salgueiro et al., 2016; Volpato et al., 2008). Além disso, até o presente momento, conhecemos apenas um relato na literatura sobre os efeitos da BF no modelo experimental de dieta hiperglicídica com *D. melanogaster* (Ecker et al., 2017).

De uma forma geral, estudos que comprovam a eficácia das plantas medicinais ainda são escassos, tornando necessários investimentos a fim de comprovar a ação hipoglicemiante e antioxidante dessa espécie vegetal (Cecílio et al., 2009). Nessa vertente, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar os efeitos da infusão das folhas de BF em parâmetros metabólicos e bioquímicos em *D. melanogaster* expostas a uma dieta enriquecida com altas concentrações de sacarose.

2. Metodologia

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Bioquímica e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos pertencente à Universidade Federal do Pampa. Amostras de folhas de BF foram coletas numa área de entorno da Universidade Federal do Pampa (29°49'46.9"S 57°06'02.4"W), durante o mês de setembro. Um exemplar foi enviado para identificação junto ao departamento de botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O restante foi seco em temperatura ambiente durante cinco dias. Uma quantidade de 1g de folhas secas moídas de BF foi colocada em infusão com 10mL de água (80°C) por 15 min. Após, a infusão foi filtrada e armazenada sob refrigeração para posterior utilização.

As *D. melanogaster* - Harwich de linhagem selvagem, obtidas a partir do *National Species Stock Center*, Bowling Green, OH, cedidas pelo Laboratório de Biologia Molecular de *Drosophilas* da Universidade Federal de Santa Maria foram acondicionadas em frascos de vidro e mantidas em estufas com temperatura controlada (25°C) e ciclo claro/escuro de 12h. O meio de cultura foi constituído de uma mistura padronizada de 10% de ágar, 10% de leite em pó, 8% de Nipagin e diferentes concentrações de sacarose (10%, 30% e 40%), conforme o método descrito por Morris et al. (2012), onde 10% representa o controle normoglicêmico e 30 e 40% dietas hiperglicêmicas. O meio foi preparado em autoclave e os frascos foram sincronizados um dia antes de colocar as moscas no tratamento, para que todas tivessem a mesma idade. As moscas fêmeas e machos foram separadas em frascos diferentes e tratadas de forma simultânea. Com exceção dos controles, a estes meios foi adicionada diariamente a infusão de BF, pelo método do papel filtro. O tratamento durou 3 dias, e no quarto dia as moscas foram eutanasiadas para as análises bioquímicas.

O peso das moscas foi avaliado antes e após os três dias de tratamento, imediatamente antes da eutanásia. Brevemente, as moscas retiradas do tratamento foram crioanestesiadas e pesadas em balança de precisão em grupos de 10 moscas. O peso total foi dividido por 10 para a realização da média de peso individual.

Os níveis de glicose, colesterol total e triglicerídeos foram avaliados no sobrenadante de homogenatos de moscas através de Kits comerciais. Em resumo, vinte moscas de cada grupo foram crioanestesiadas, pesadas e homogeneizadas em tampão TFK 50mM. O homogenato foi centrifugado por 10 minutos, a 2000 r.p.m e o sobrenadante utilizado para as análises.

A atividade da SOD foi determinada conforme o protocolo proposto por Kostyuk & Potapovich (1989) com adaptações. Para isso, grupos de vinte moscas foram crioanestesiadas e homogeneizadas em tampão TFK 50mM. O homogenato foi centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante utilizado para as análises. A análise cinética da atividade da SOD foi realizada em leitora de microplacas e iniciada a partir da adição de quercetina. A reação foi monitorada a 406 nm nos tempos 0 e 20min. Os resultados foram calculados em unidades de SOD por litro (U/L), corrigidos pela quantidade de proteínas, e expressos em porcentagem do controle.

A dosagem de proteínas foi realizada de acordo com o método de Bradford (1976). As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas, conforme descrito anteriormente, e as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 595 nm.

Para análise de sobrevivência, trinta fêmeas e trinta machos foram mantidos em frascos contendo os meios de cultura descritos acima. A cada 72h horas, os meios foram trocados. Os indivíduos foram contados diariamente. Esse procedimento foi repetido até morte total das moscas em cada tratamento.

Os ensaios foram realizados em três réplicas biológicas, com exceção da análise da sobrevivência. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. A análise estatística utilizada foi ANOVA de duas vias seguida de *post hoc* de Duncan, quando necessário. O valor de *p* foi significativo quando $<0,05$.

3. Resultados e Discussão

O Brasil apresenta uma grande riqueza em sua flora, o que leva a ampla utilização de plantas consideradas medicinais pela população. No entanto, existe uma deficiência de estudos científicos voltados para a investigação das propriedades terapêuticas dessas ervas medicinais. Nesse cenário, Ecker et al. (2017) ressalta que as plantas medicinais são excelentes fontes de compostos bioativos com potenciais efeitos benéficos para a saúde.

Ainda, deve-se considerar o impacto das altas taxas de morbidade e mortalidade associadas às doenças metabólicas. Com isso, tem se potencializado o interesse sobre a influência dos hábitos alimentares e dos efeitos de componentes naturais na progressão e tratamento dessas doenças. Os mecanismos pelos quais as plantas medicinais atuam na redução da glicose estão relacionados, entre outros fatores, ao aumento da liberação de insulina através da estimulação das células β -pancreáticas, aumento do número e da sensibilidade dos receptores de insulina, redução da captação de glicose no intestino e aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos (Dornas et al., 2009).

Nesse mesmo cenário, muito se tem discutido sobre as questões éticas que envolvem o uso de animais em pesquisas de laboratório (Negri, 2005). O interesse por diminuir o uso desses animais parte, muitas vezes, dos próprios pesquisadores, que desejam reduzir custos, visto que esses animais devem ser acondicionados, alimentados e mantidos em ótimas condições de saúde e higiene para que os resultados obtidos tenham confiabilidade (Negri, 2005). No modelo experimental aqui proposto, com o intuito desenvolver uma situação

semelhante à resistência à insulina, moscas da espécie *D. melanogaster* foram colocadas em uma dieta contendo diferentes concentrações de sacarose, desde uma dieta controle (10%) até as dietas com excesso de carboidrato (30% e 40%), de acordo com o descrito na literatura, onde foi observado que a composição da dieta afeta o metabolismo destes insetos (De Moraes et al., 2009). Isso também foi constatado no estudo realizado por Lushchak et al. (2011), onde foi descrito que a quantidade de carboidrato presente na dieta leva a alterações nos parâmetros bioquímicos das moscas.

Morris et al. (2012) observaram que uma dieta rica em carboidratos leva ao aumento significativo de peso nas *D. melanogaster*. Nossos achados mostraram uma tendência em aumento de peso apenas nas moscas fêmeas, embora não significativa, à medida que aumentou a concentração de sacarose. Nos machos, isso não foi observado (FIGURA 1).

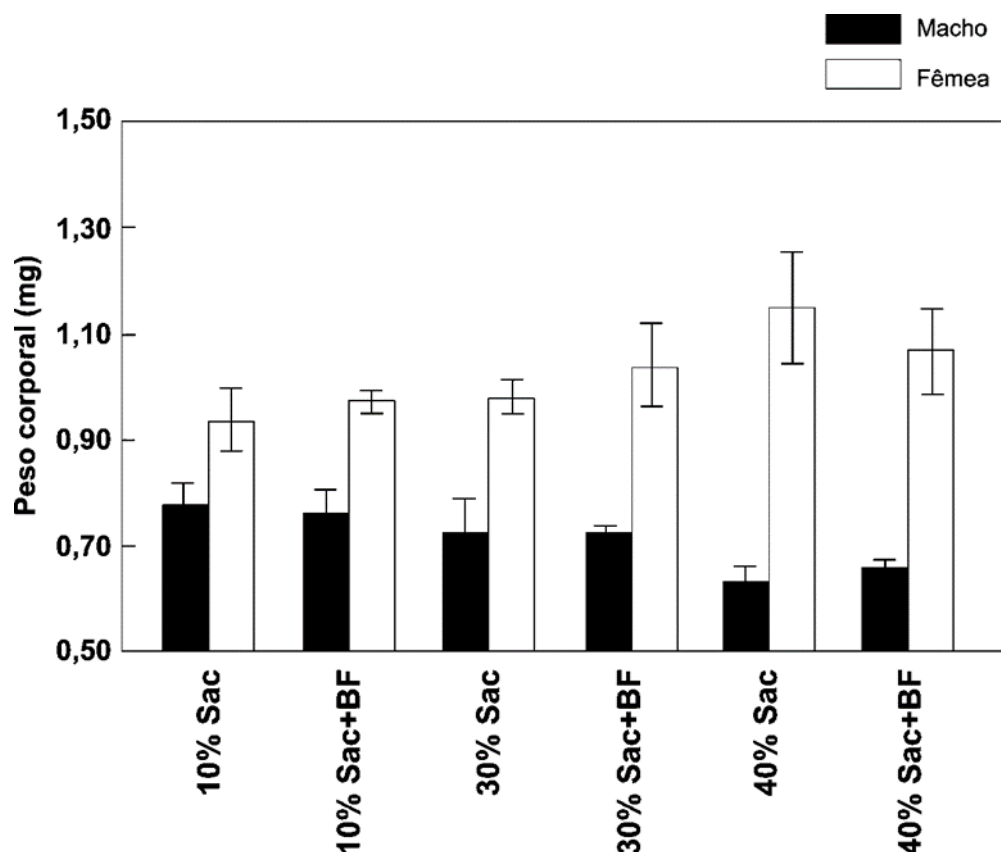


Figura 1- Efeitos do chá de BF sobre o peso em *D. melanogaster* fêmeas e machos expostos a altas concentrações de sacarose.

Nossos achados também mostram que as moscas fêmeas tratadas com dieta enriquecida na concentração de 40% de sacarose apresentaram níveis de glicose significativamente mais elevados em comparação com o grupo da mesma concentração que

foi tratado com o chá de BF (FIGURA 2). Nos machos isso também foi observado, porém na concentração de 30% de sacarose (FIGURA 2). Acreditamos que apesar do curto tempo de exposição ao tratamento experimental aqui proposto, a elevação dos níveis de glicose na hemolinfa das moscas deve-se de fato a um quadro semelhante à resistência insulínica em mamíferos. Por possuírem um breve ciclo de vida (em torno de 27 dias), *D. melanogaster* respondem mais rapidamente às alterações na dieta quando comparadas com animais mais complexos. Dessa forma, a maioria dos trabalhos que investigam alterações metabólicas e bioquímicas induzidas por dietas hipercalóricas utilizam larvas ou exposições de 2 a 10 dias na vida adulta (Morris et al., 2012; Lushchak et al., 2011).

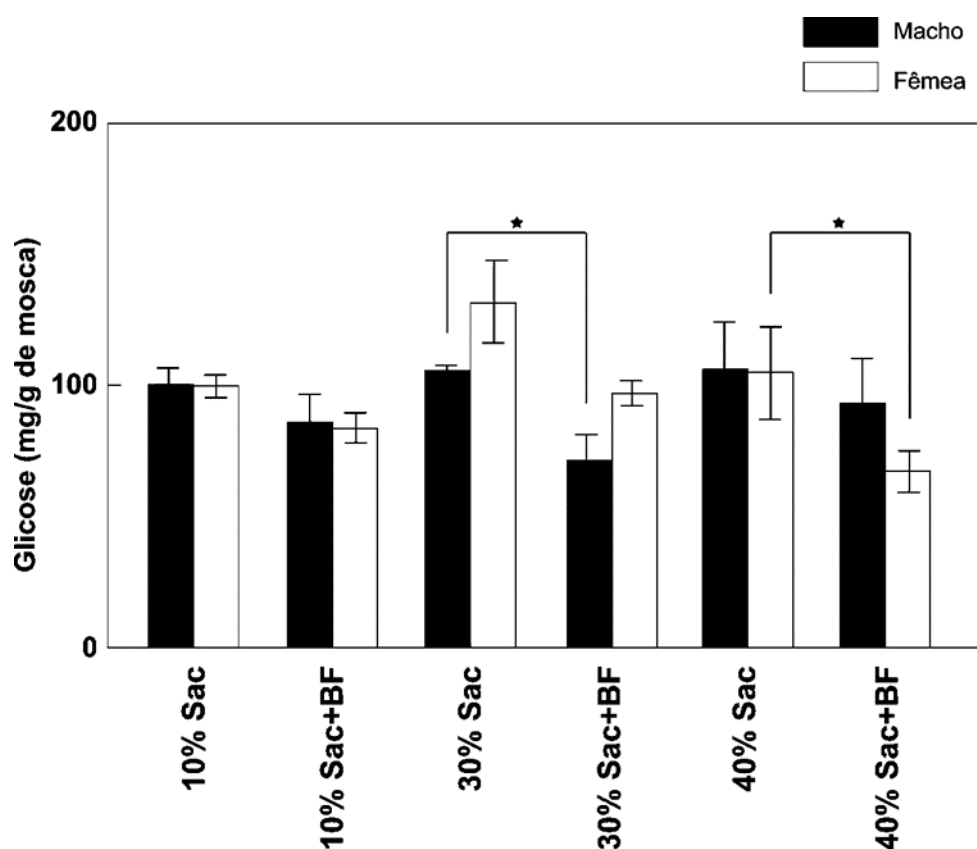


Figura 2 - Efeitos do chá de BF sobre os níveis de glicose de *D. melanogaster* fêmeas e machos expostos a altas concentrações de sacarose.

No estudo realizado por Silva et al. (2002), onde foi analisado o efeito de BF em ratos com DM induzida por aloxano, também foi observada a ação hipoglicemiante da planta. Da mesma forma, foi relatada atividade hipoglicemiante em estudos que avaliaram o efeito do extrato seco das folhas de BF em ratos com DM induzido por estreptozotocina (Morales,

2008; Pepato et al., 2002). Em estudo semelhante, Ecker et al. (2017) apontaram que tratamentos realizados com extratos de duas plantas, *Syzygium cumini* e BF, amenizaram as alterações de desenvolvimento provocadas por dietas ricas em sacarose, atuaram na redução da hiperglicemia, corrigiram distúrbios redox e alterações na expressão de mRNA do receptor de insulina. Porém, o extrato de *Syzygium cumini* foi mais eficiente que o de BF.

Em relação aos triglicerídeos (TG), quando comparados com o grupo controle (10% de sacarose), os níveis de TG foram significativamente aumentados nas fêmeas que consumiram 30% de sacarose na dieta. No entanto, nas demais concentrações e nos machos, não foi observada diferença significativa (FIGURA 3). Corroborando com nossos achados, Ecker et al. (2017), em sua pesquisa também observaram que a BF reduziu os níveis de TG elevados nas moscas que tiveram 30% de sacarose na dieta.

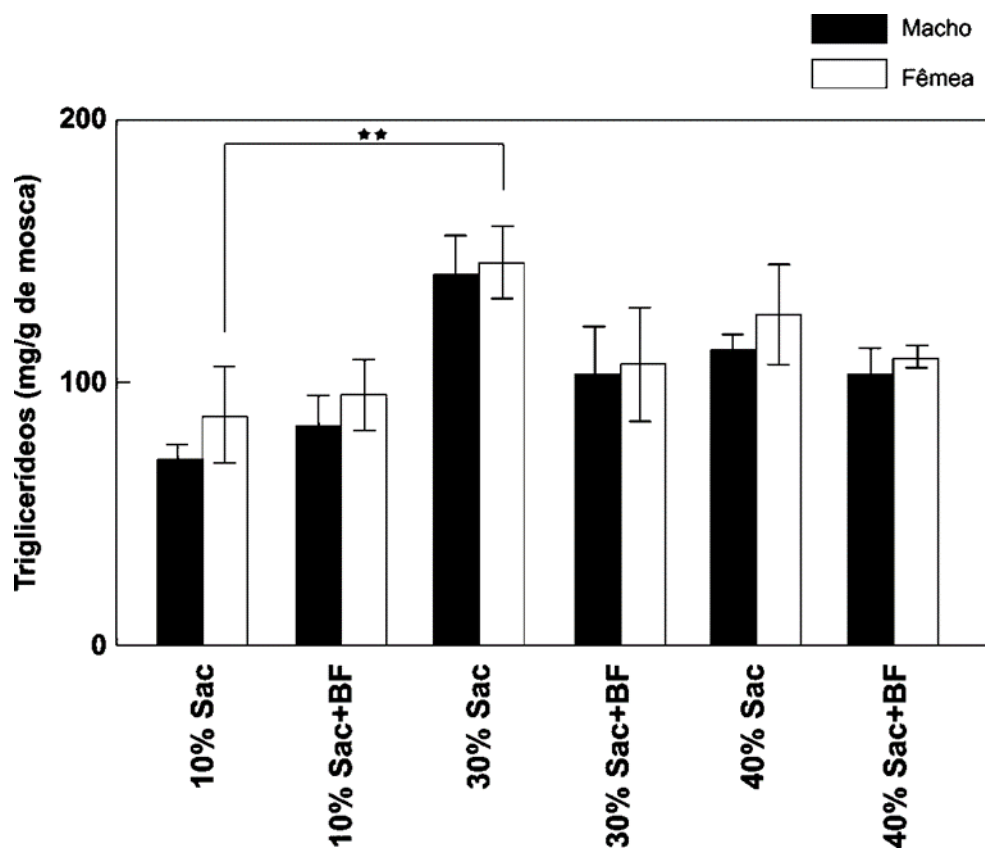


Figura 3- Efeitos do chá de BF sobre os níveis de TG em *D. melanogaster* fêmeas e machos expostos a altas concentrações de sacarose.

Estes resultados estão de acordo com o demonstrado por Pepato et al. (2002), onde analisaram o efeito da decocção das folhas de BF em ratos com DM induzida por estreptozotocina, mostrando efeito hipoglicemiante, porém houve manutenção dos níveis

séricos de TG. Os níveis de colesterol não foram alterados de maneira significativa tanto nas fêmeas, quanto nos machos (FIGURA 4). Entretanto, observou-se uma discreta redução não relevante dos níveis de colesterol nos grupos tratados quando comparados com os grupos que não receberam a infusão de BF.

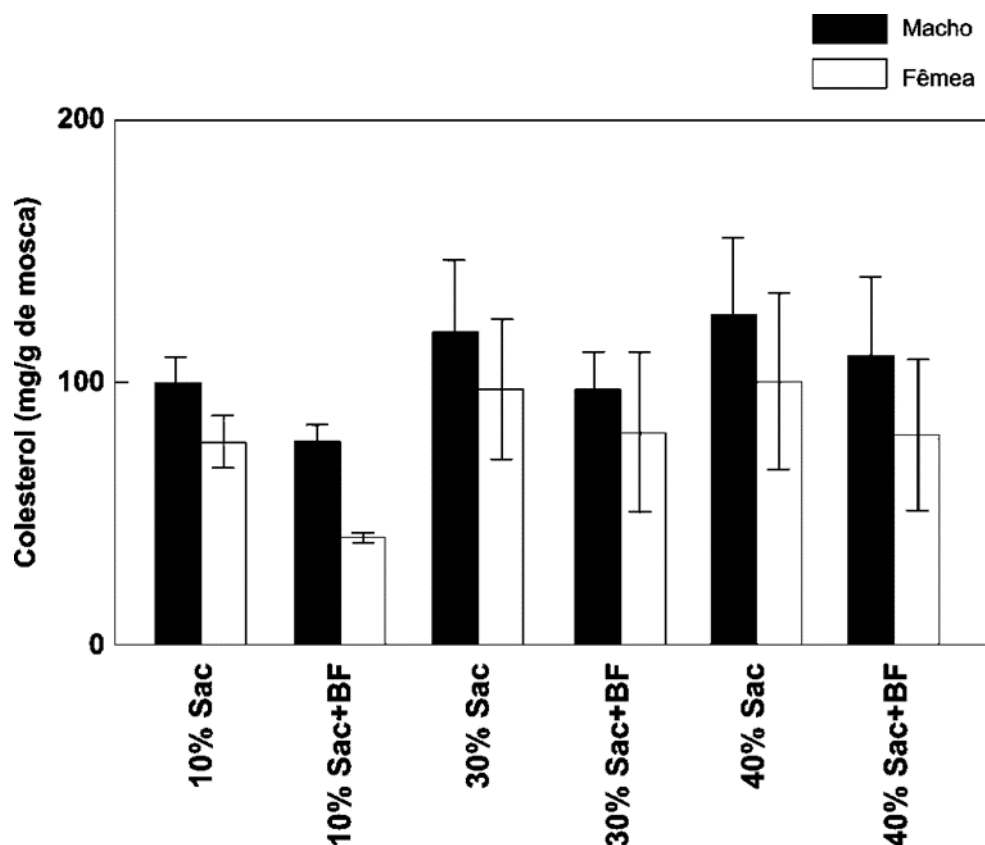


Figura 4 - Efeitos do chá de BF sobre os níveis de colesterol em *D. melanogaster* fêmeas e machos expostos a altas concentrações de sacarose.

Assim como observado por Lushchak et al. (2011), onde se concluiu que moscas machos e fêmeas apresentam diferenças em vários parâmetros bioquímicos, nossos achados também mostram que o sexo das moscas influencia nas respostas às diferentes concentrações de carboidrato na dieta. Neste mesmo estudo, foi demonstrado que a atividade da SOD era maior nas fêmeas, o que não se observou de forma significativa em nossos achados (FIGURA 5).

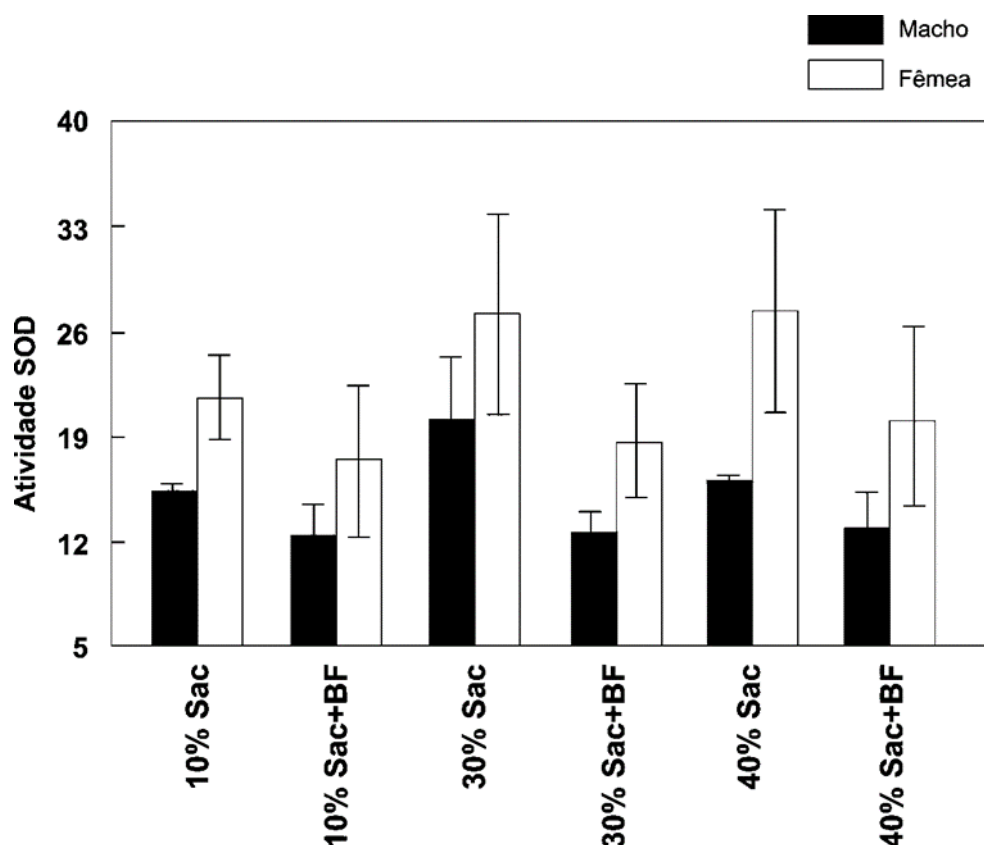


Figura 5 - Efeitos do chá de BF sobre a atividade da SOD em *D. melanogaster* fêmeas e machos expostos a altas concentrações de sacarose.

Por outro lado, Salgueiro et al. (2016) relatam que os benefícios da infusão das folhas de BF podem estar relacionados a sua atividade antioxidante, uma vez que a infusão apresenta altos níveis de polifenóis e flavonoides, tais como quercetina e canferol. A infusão das folhas de BF pode, ainda, diminuir a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos incubados com altas concentrações de glicose, visto que esta pode causar dano oxidativo às membranas. Porém, estudos mais específicos devem ser realizados para avaliar as vias pelas quais estes fenômenos ocorrem (Salgueiro et al., 2013).

Em relação ao tempo de sobrevivência nas diferentes concentrações de sacarose, foi realizada uma análise em duplicata, porém não foi observada diferença significativa entre os grupos, sendo que a média de sobrevivência foi cerca de 30 dias (dados não mostrados). Acreditamos que os resultados obtidos (exceto sobrevivência) se devam ao curto tempo de tratamento (três dias) sendo que um tratamento mais longo poderia levar a diferenças mais significativas. Em suma, os dados sugerem que uma dieta rica em carboidratos pode alterar os níveis de glicose em *D. melanogaster* e que o chá de BF pode ser útil na redução destes níveis. No entanto, um estudo com maior tempo de exposição deve ser realizado para

obterem-se resultados mais completos.

4. Considerações Finais

Os resultados aqui apresentados mostraram que a infusão das folhas de BF, no modelo experimental proposto, apresentou uma tendência à atividade “hipoglicemiante”. A partir dos resultados obtidos, acreditamos que uma dieta rica em carboidratos pode alterar os níveis de glicose em *D. melanogaster* e que o chá de BF pode ser útil na redução destes níveis. Considerando a demasiada utilização de plantas na medicina popular e o pouco conhecimento sobre os efeitos destas espécies vegetais, pontuamos como importantes implicações clínicas desse trabalho o entendimento acerca dos efeitos da BF sobre parâmetros bioquímicos e metabólicos em *D. melanogaster*.

Assim, os dados apresentados nesta pesquisa abrem perspectivas para estudos mais amplos com essa espécie. Entende-se que o curto período de exposição foi uma limitação deste estudo e, como perspectivas, apontamos a necessidade de uma investigação que avalie o efeito da infusão das folhas de BF em um maior tempo de exposição.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPERGS e CNPq pela disponibilização de bolsas de estudo. ACFS é bolsista CAPES/Brasil.

Referências

Brito, A., Macedo, J., Carvalho, S., Oliveira, J., Brito, F., Pinheiro, A., Costa, P., & Silva, D. (2020). Eficácia do tratamento dietoterápico para pacientes com diabetes mellitus. *Research, Society and Development*, 9(1), e114911728. doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i1.1728>.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*; 7;72:248-54. doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

Broughton, S., Alic, N., Slack, C., Bass, T., Ikeya, T., Vinti, G., Tommasi, A. M., Driege, Y., Hafen, E., Partridge, L. (2008). Reduction of DILP2 in *Drosophila* triages a metabolic

phenotype from lifespan revealing redundancy and compensation among DILPs. *PLoS ONE*, 3(11): e3721. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003721>.

Casas-Tinto, S., Marr, M. T., Andreu, P., & Puig, O. (2007). Characterization of the *Drosophila* insulin receptor promoter. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression*, 1769(4):236-43. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbaexp.2007.03.003>.

Cecílio, A. B., Resende, L. B., Costa, A. C., Cotta, M. M., Giacomini, L. F., Gomes, L. C., Silva, L. A., Vaz, C. P. O., Oliveira, F. Q. (2009). Espécies vegetais indicadas no tratamento do diabetes. *Revista Eletrônica de Farmácia*, (3), 23 – 27. doi: <https://doi.org/10.5216/ref.v5i3.5367>.

De Moraes, S. M., Cavalcanti, E. S. B., Costa, S. M. O., & Aguiar, L. A. (2009). Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(1B), 315–320. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200023>.

Dornas, W. C., Oliveira, T. T., Dore, R. G. R., Fabres, M. H. A., & Nagem, T. J. (2009). Efeitos antidiabéticos de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(2a), 488-500. doi: <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2009000300024>.

Ecker, A., Gonzaga, T. K. S. do N., Seeger, R. L., Santos, M. M. dos, Loreto, J. S., Boligon, A. A., Meinerz, D. F., Lugokenski, T. H., Rocha, J. B. T., Barbosa, N. B. V. (2017). High-sucrose diet induces diabetic-like phenotypes and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: Protective role of *Syzygium cumini* and *Bauhinia forficata*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89, 605–616. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.076>.

Folmer V, Soares JCM, R JBT. (2002). Oxidative stress in mice is dependent on the free glucose content of the diet. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 34(10), 1279–1285. doi: [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(02\)00065-1](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00065-1).

Internacional Diabetes Federation (IDF). [Internet]. Promoting diabetes care, prevention and a cure worldwide. Advocacy Guide 2019. Acesso em 26 de novembro de 2019. <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html>

Kostyuk, V. A., & Potapovich, A. I. (1989). Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase. *Biochemistry International*; 19(5):1117-24.

Lushchak, O. V, Rovenko, B. M., Gospodaryov, D. V, & Lushchak, V. I. (2011). *Drosophila melanogaster* larvae fed by glucose and fructose demonstrate difference in oxidative stress markers and antioxidant enzymes of adult flies. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 160(1), 27–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.04.019>.

Morales, M. M. (2008). Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? *Ciência e Cultura*; 60(2), 33–36. Acesso em 26 de novembro de 2019. http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252008000200015&script=sci_arttext.

Morris, S. N., Coogan, C., Chamseddin, K., Fernandez-Kim, S. O., Kolli, S., Keller, J. N., Bauer, J.H. (2012). Development of diet-induced insulin resistance in adult *Drosophila melanogaster*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1822(8):1230-7. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.04.012.

Negri, G. (2005). Diabetes melito: Plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. *Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas*, 41(2). <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000200002>.

Pepato, M. T., Keller, E. H., Baviera, A. M., Kettelhut, I. C., Vendramini, R. C., & Brunetti, I. L. (2002). Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2): 191-197. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00075-2).

Rulifson, E. J., Kim, S. K., & Nusse, R. (2002). Ablation of insulin-producing neurons in flies: Growth and diabetic phenotypes. *Science*, Vol. 296, Issue 5570, pp. 1118-1120. <https://doi.org/10.1126/science.1070058>.

Salgueiro, A. C. F., Leal, C. Q., Bianchini, M. C., Prado, I. O., Mendez, A. S., Puntel, R. L., Folmer, V, Soares, F. A., Avila, D.S., & Puntel, G. O. (2013). The influence of *Bauhinia forficata* Link subsp. *pruinosa* tea on lipid peroxidation and non-protein SH groups in human

erythrocytes exposed to high glucose concentrations. *Journal of Ethnopharmacology*; 148(1): 81–87. Acesso em 19 de novembro de 2019. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.070

Salgueiro, A. C. F., Fomer, V., Silva, M. P., Mendez, A. S. L., Zemolin, A. P. P., Posser, T., Franco, J. L., Puntel, R. L., & Puntel, G. O. (2016). Effects of *Bauhinia forficata* Tea on Oxidative Stress and Liver Damage in Diabetic Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9. Acesso em 22 de novembro de 2019. <https://doi.org/10.1155/2016/8902954>

Sociedade Brasileira de Diabetes (SDB). (2018). Princípios básicos: avaliação, diagnóstico e metas de tratamento do diabetes mellitus *Diretrizes 2017-2018*. Acesso em 26 de novembro de 2019. <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sdb-2017-2018.pdf>

Silva, F. R., Szpoganicz, B., Pizzolatti, M. G., Willrich, M. A., & De Sousa, E. (2002). Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 83(1-2):33-7. doi: [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00193-9](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00193-9).

Trojan-Rodrigues, M., Alves, T. L., Soares, G. L., & Ritter, M. R. (2012). Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*; 139(1):155-63. doi: 10.1016/j.jep.2011.10.034.

Volpato, G. T., Damasceno, D. C., Rudge, M. V., Padovani, C. R., & Calderon, I. M. (2008). Effect of *Bauhinia forficata* aqueous extract on the maternal-fetal outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 116(1):131-7. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.013>.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Ianeli Oliveira do Prado – 25%

Aline da Silva Goulart – 15%

Débora Lopes Viçosa – 15%

Vanderlei Folmer – 20%

Andréia Caroline Fernandes Salgueiro – 25%